

**Immunologische Studien zur Frage
der Antigenität von menschlichen Hormonen
aus der Gruppe der Ovarialhormone**

Versuche zur Bestimmung normaler und pathologisch
erhöhter Progesteronspiegel

von

Dieter Krause

aus

Wassertrüdingen



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554222_0069

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Immunologische Studien zur Frage der Antigenität von menschlichen Hormonen aus der Gruppe der Ovarialhormone

Versuche zur Bestimmung normaler und pathologisch
erhöhter Progesteronspiegel

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Dieter Krause

aus

Wassertrüdingen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. A. Kröncke

Referent: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 11. 2. 1969

STÄNDIGES VERZEICHNIS

STÄNDIGES

MEINEN ELTERN IN DANKBARKEIT GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK	3
ERGEBNISSE	9
DISKUSSION	11
ZUSAMMENFASSUNG	14
LITERATURVERZEICHNIS	15

EINLEITUNG

Bisherige in der Literatur (1, 3, 4, 6, 7, 10) bekanntgewordene immunologische Versuche mit Steroiden haben bewiesen, daß prinzipiell Antikörper gegen Hormone produziert werden können. Allerdings wurde in den meisten der vorliegenden Arbeiten das Steroid an ein Protein, z. B. Bovin-Albumin, in vitro gebunden und somit zum Vollantigen komplettiert. Die Sensibilisierungseffekte waren unter diesen Voraussetzungen stets positiv, jedoch war die Spezifität der gebildeten Antikörper gegen die verwendeten Antigene nicht streng gehalten. So gelang es z. B. bei Versuchen mit Testosteron und Progesteron nicht ohne weiteres, durch die induzierten Antikörper später eine exakte immunologische Differenzierung dieser beiden Antigene vorzunehmen. Ein anderes System zum immunologischen Nachweis von Hormon-Antikörpern wurde zur Bestimmung von Chorion-Gonadotropin (9) entwickelt, welcher darauf beruht, daß bei Vorhandensein von spezifischem Chorion-Gonadotropin im Harn von Schwangeren dieses im Sinne einer Antikörper-Ablenkungsreaktion bei definiertem Antigen-Antikörper-System nachgewiesen wird. In nachfolgender Arbeit soll geprüft werden, ob menschliche Sexualhormone, hier Progesteron, als Hapten im Heterosensibilisierungsversuch Antikörper-Bildung induzieren und ob

bei einer derartigen Versuchsanordnung die gewonnenen Antiseren zum immunologischen Nachweis des spezifischen Antigens geeignet sind.

VERSUCHSANORDNUNG UND METHODIK

1. VERSUCHSANORDNUNG

Sechs Kaninchen wurden mit Humanhormon Progesteron nach folgendem Schema sensibilisiert, (Abb. 1)

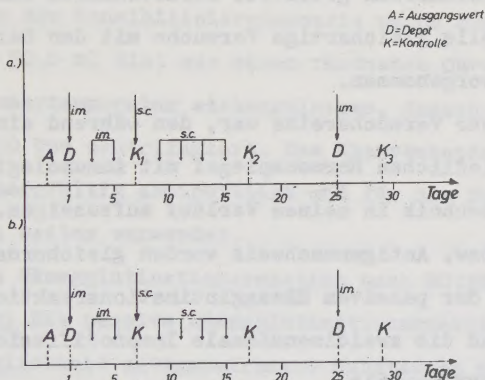


Abb. 1: Zeigt den Sensibilisierungsmodus mit Progesteron, wobei oben (a) drei Kaninchen mit FREUNDschem Adjuvans, unten (b) drei weitere Kaninchen ohne jeglichen Zusatz behandelt wurden.

Außerdem standen 2 Kaninchen als Kontrolltiere zur Verfügung.

Wie aus dem Schema der Abb. 1 ersichtlich ist, wurde am 29. Tag nach Sensibilisierungsbeginn Blut in größerer Menge abgenommen zur Gewinnung der Seren, die im weiteren für die Analysen verwendet wurden.

Zur jeweiligen Prüfung des Antikörpertiters (zum Zeitpunkt der verschiedenen Kontrollen) wurden die passive Hämagglutination nach BOYDEN, sowie die zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY gewählt. Zunächst wurden die Antihormonseren von Kaninchen in unterschiedlichen Konzentrationen gegen das für die Sensibilisierung verwendete Reinhormon getestet. Darüberhinaus wurden ab 3. Kontrolle gleichartige Versuche mit den Seren von Frauen⁺ vorgenommen.

Ziel dieser Versuchsreihe war, den während eines Zyklus unterschiedlichen Hormonspiegel mit immunologischer Nachweistchnik in seinem Verlauf aufzuzeigen. Zum Antikörper- bzw. Antigennachweis wurden gleichermaßen die Methoden der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN und die zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY gewählt.

2. METHODIK

a) Aufbereitung des Reinhormons:

Das in Pulverform gelieferte Progesteron⁺⁺ wurde in einem Gemisch aus Äthylalkohol (96 %ig) und physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:1 aufbereitet. Diese Mischung wurde in zahlreichen Vorversuchen als günstigste ermittelt. Bei Zugabe des Hormons konnte allerdings eine klare Lösung nicht erzielt werden. Aber die feindisperse Verteilung im Lösungsmittel erwies sich für die Versuche als ausreichend.

+ Verwendet wurde das Serum von Patientinnen der Immunologischen Abteilung des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg.

++ Das Reinhormon lieferte die Firma ORGANON, München

b) Verwendung von FREUNDSchem Adjuvans:

Für die Sensibilisierung mit FREUNDSchem Adjuvans wurde obige Suspension mit DIFCO-BACTO⁺ Adjuvans im Verhältnis 3:1 mit dem Ultra-Turrax emulgiert und i.m. bzw. s.c. appliziert (vergl. Abb. 1).

c) Gewinnung der Immunseren:

Am Ende der Sensibilisierungsserie wurde den Kaninchen bis zu 50,0 ml Blut aus einer randnahen Ohrvene entnommen, bei Zimmertemperatur stengelassen, danach 10 min lang bei 3000 Upm zentrifugiert. Das überstehende klare Serum wurde sorgfältig abpipettiert und für die folgenden Studien weiter verwendet.

d) Passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN:

Prinzip: Die passive Hämagglutinationsreaktion beruht auf der Möglichkeit antigenwirksame Substanzen an die Oberfläche von tanninbehandelten Erythrozyten zu adsorbieren. Die so sensibilisierten Erythrozyten gehen bei Zugabe des spezifischen Immunserums eine Agglutination ein.

Ausführung:

1. Vorbehandlung der Erythrozyten

- a) Gewinnung: Menschliches O-rh-neg. Blut wird durch Zugabe von 3,8 %iger Natriumcitratlösung ungerinnbar gemacht.
- b) Waschen: Das Blut wird anschließend zentrifugiert und das überstehende Serum verworfen. Die verbleibenden Erythrozyten werden dreimal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und anschließend auf eine 2,5 %ige Suspension eingestellt.

c) Tannieren: Gleiche Teile einer Tanninsäurelösung 1:40000 werden zu dieser Suspension gemischt und 20 min bei 37°C inkubiert. Die Erythrozytensuspension wird 10 min bei 1500 U/min abzentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgossen und nach nochmaligem Waschen in physiologischer NaCl-Lösung erneut auf eine 2,5 %ige Erythrozytensuspension eingestellt,

d) Inkubieren mit dem Antigen: Zu 10 ml der 2,5 %igen tannierten Erythrozytensuspension werden 0,2 ml Antigen (Reinhormon, Patientinnenserum) gegeben. Das Gemisch wird 20 min bei 37°C inkubiert. Danach wird bei 1500 U/min abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit verworfen. Nach zweimaligem Waschen wird erneut eine 2,5 %ige Erythrozytensuspension hergestellt.

2. Aufbereitung des Immunserums:

Versuchstieren werden 10 ml Blut abgenommen und abzentrifugiert. Das überstehende Serum wird nach einer geometrischen Verdünnungsreihe (1:0 bis 1:1024) mit physiologischer NaCl-Lösung aufbereitet.

3. Versetzen der geometrischen Verdünnungsreihe mit der tannierten und antigenbeladenen Erythrozytensuspension: Zur Titerbestimmung werden jeweils 0,25 ml der sensibilisierten Erythrozyten und 0,25 ml physiologischer NaCl-Lösung zu einer geometrischen Verdünnungsreihe des zu untersuchenden Serums hinzugegeben. Hierauf läßt man die Agglutination 2 Std bei Zimmertemperatur stehen.

4. Beurteilung:

Die letzte noch eine Agglutination zeigende Verdünnung des Immunserums wird als Antikörpertiter bezeichnet. Zum Ausschluß möglicher Fehler wurden bei den ersten Kontrollen Leerversuche durchgeführt. Dabei wurden die Platten auf folgende Weise beschickt:

0,25 ml physiologische NaCl-Lösung

+ 0,25 ml sensibilisierte Erythrozyten

bzw.:

0,25 ml verdünntes Serum

+ 0,25 ml nicht sensibilisierte Erythrozyten

e) Zweidimensionale Immunodiffusion nach OUCHTERLONY:

Prinzip: Die zweidimensionale Immunodiffusion beruht darauf, daß die Reaktionspartner dem Trägermedium (Elektrophoreseagar⁺) frei zugeführt werden. Beide diffundieren in das Agargel. An den Stellen optimaler Konzentration entstehen Praecipitate, die sich hier in Gestalt von Linien abzeichnen. Jede dieser Linien entspricht einem einzelnen Antigen-Antikörper-System.

Ausführung: Objektträger mit den Abmessungen 76 x 26 mm wurden mit 3 ml Elektrophoreseagar beschickt und dieser zum Erstarren gebracht.

Aus der Agarschicht wurden im Abstand (Mittelpunkt zu Mittelpunkt) von 1,5 cm in der Form eines Sechseckes 6 Löcher ($\varnothing$ 3 mm) ausgestanzt. Diese wurden bis zum

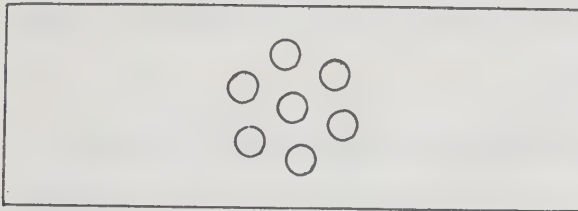
+ DIFCO-BACTO-Agar

DIFCO-Laboratories, Detroit, Michigan, USA

Rand mit geometrisch verdünntem Serum (1:0, 1:4, 1:16, 1:64, 1:128, 1:512) angefüllt.

In die Mitte wurde ein weiteres Loch gestanzt; der Abstand von den anderen betrug 0,7 cm. In dieses wurde suspendiertes Reinhormon Progesteron (siehe 2a) eingebracht.

Die Anordnung wurde so gewählt, daß sich Antigen und Antikörper gegenüberstanden. (Abb. 2)



$M=1:1,5$

Abb. 2: Zeigt skizziert den bei der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY verwendeten Objektträger und die Anordnung der sieben Löcher.

ERGEBNISSE

1. Befunde der Hämagglutinationsreaktion

a) Verwendung von Reinhormon als Antigen:

Die Seren der unbehandelten Kaninchen (Ausgangswerte) blieben negativ. Auch bei erster Kontrolle konnte in den Seren der Versuchstiere keine Agglutination aufgezeigt werden.

Dagegen erbrachten die 2. und 3. Kontrolle jeweils positive Ergebnisse mit Titerwerten von 1:512 und 1:1024. Ein Anstieg des Hämagglutinationstiters gegen Reinhormon war demnach während der 1. und 2. Kontrolle zu beobachten; bei der 3. Kontrolle dagegen zeigte sich kein weiterer Anstieg mehr. (Abb. 3).

Die parallel untersuchten Kontrolltiere erwiesen sich sämtlich als negativ. (Tab. 1). Erhebliche Unterschiede im Sensibilisierungseffekt - zeitlich oder quantitativ - konnten zwischen den mit FREUNDschem Adjuvans und den ausschließlich mit Hormon behandelten Tieren nicht objektiviert werden. Die Ergebnisse sind u.a. in den Abbildungen 4 und 5 und in den Tabellen 2 und 3 wiedergegeben.

Wie aus der Abb. 4 deutlich erkennbar ist, traten am Anfang der Verdünnungsreihe häufig Hämolysen auf, die mit ansteigender Verdünnung von Agglutinationen (Abb. 10) abgelöst wurden,

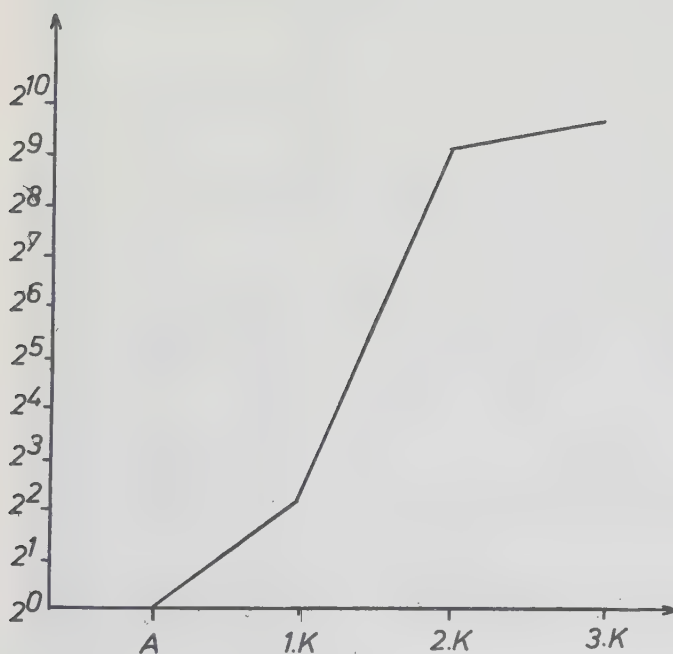


Abb. 3: Titerverlauf (Mittelwerte) während des Versuchs-
zeitraumes,

	mit FREUNDSchem Adjuvans			ohne FREUNDSches Adjuvans			Kontrolle	
	K_I	K_{II}	K_{III}	K_{IV}	K_V	K_{VI}	K_I	K_{II}
A	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
1.K	Ø	Ø	Ø	Ø	1:32	Ø	Ø	Ø
2.K	1:512	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	1:256	Ø	1:16
3.K	1:512	1:512	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	Ø	Ø

Tab. 1: Hämagglutinationstiter während der Kontrollen
für beide Gruppen.

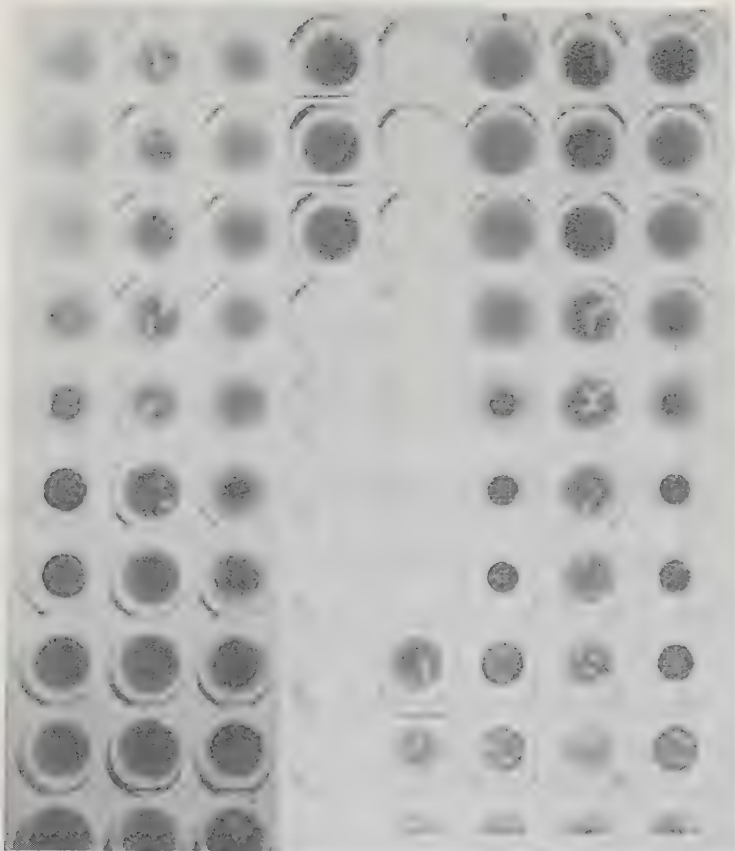


Abb. 4: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Human-Progesteron und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Originalplatten)

	1:2 ¹⁰							
1:0	∅	∅	∅	+		∅	∅	∅
1:2	∅	∅	∅	∅		∅	∅	∅
1:2 ²	∅	∅	∅	∅		∅	∅	(+)
1:2 ³	(+)	∅	∅			(+)	∅	+
1:2 ⁴	+	∅	∅			+	∅	+
1:2 ⁵	+	∅	+			+	∅	+
1:2 ⁶	+	∅	+			+	∅	+
1:2 ⁷	+	∅	+		+	+	∅	+
1:2 ⁸	+	∅	+		∅	+	∅	+
1:2 ⁹	+	∅	∅		∅	+	∅	+

Tab. 2: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Human-Progesteron und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Schematische Darstellung)

- zunehmender Agglutinationstiter

				1:2 ¹⁰				
1:0	∅	∅	∅	+		∅	∅	∅
1:2	∅	∅	∅	∅		∅	∅	∅
1:2 ²	∅	∅	∅	+		∅	∅	∅
1:2 ³	∅	∅	∅			∅	∅	∅
1:2 ⁴	(+)	∅	∅			(+)	∅	(+)
1:2 ⁵	+	∅	∅			(+)	∅	∅
1:2 ⁶	+	∅	+			+	∅	+
1:2 ⁷	+	∅	+		+	+	∅	+
1:2 ⁸	+	∅	+		∅	+	∅	+
1:2 ⁹	+	∅	+		+	+	∅	+

Tab. 3: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Human-Progesteron und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Schematische Darstellung)

↓
← zunehmender Agglutinationstiter

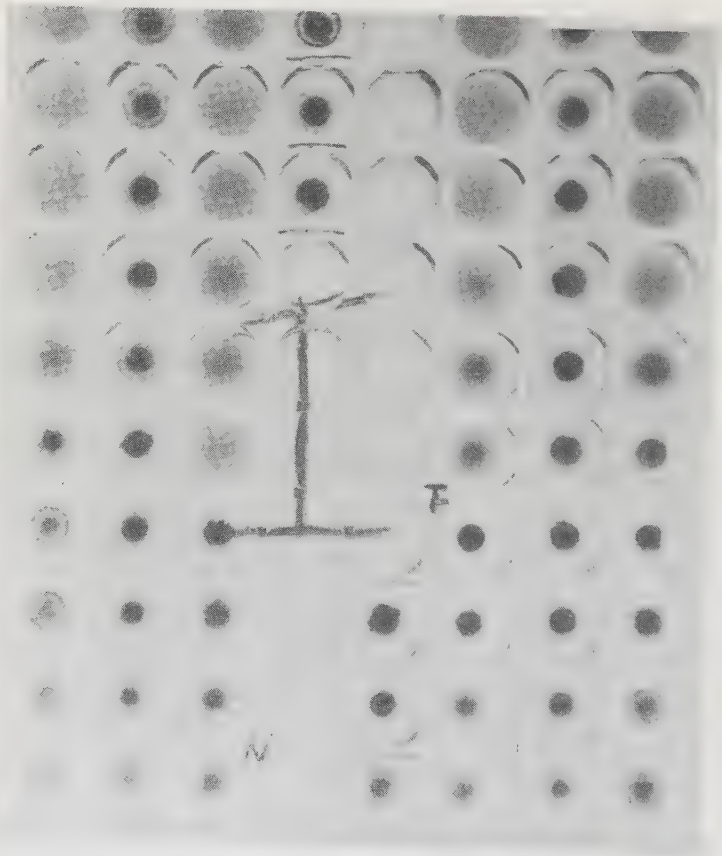


Abb. 5: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Human-Progesteron und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Originalplatten)



Abb. 10: Zeigt eine typische Agglutination für die angewandte passive Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN.
(Originalplatte)

b) Verwendung von Patientinnenserum als Antigen:

Mit dem Antikörperserum der 3. Kontrolle wurden sämtliche Versuche mit Patientinnenserum durchgeführt. Wie aus den Abbildungen 6, 7, 8, 9 und den Tabellen 4, 5, 6, 7, 8, 9 besonders zusammengefaßt aus Abb. 12 zu entnehmen ist, konnten zeitlich abhängige unterschiedliche Agglutinationsreaktionen dargestellt werden.

In der Abbildung 12 sind nur die Versuchspersonen berücksichtigt worden, die über den gesamten Beobachtungszeitraum zur Verfügung standen.

2. Ergebnisse mit der Präzipitationstechnik

(Untersuchung auf präzipitierende Antikörper)

Die Testungen des Hormonpräparates gegen die Kaninchenserum im Agargel erbrachten über die gesamte Beobachtungszeit in keinem Falle, d. h. zu keiner der angesetzten Kontrollen und mit keinem der Einzelseren positive Präzipitationsreaktionen. Auch die Ausgangswerte waren sämtlich negativ.

	1:2 ¹⁰						
1:0	∅	∅	∅			+	
1:2	∅	∅	∅			+	
1:2 ²	∅	∅	∅			+	
1:2 ³	∅	(+)	(+)				
1:2 ⁴	(+)	(+)	(+)				
1:2 ⁵	(+)	(+)	(+)				
1:2 ⁶	+	+	+				
1:2 ⁷	+	+	+				
1:2 ⁸	+	+	+				
1:2 ⁹	+	+	+				

Tab. 4: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen (Schematische Darstellung)

↓
- zunehmender Agglutinationstiter

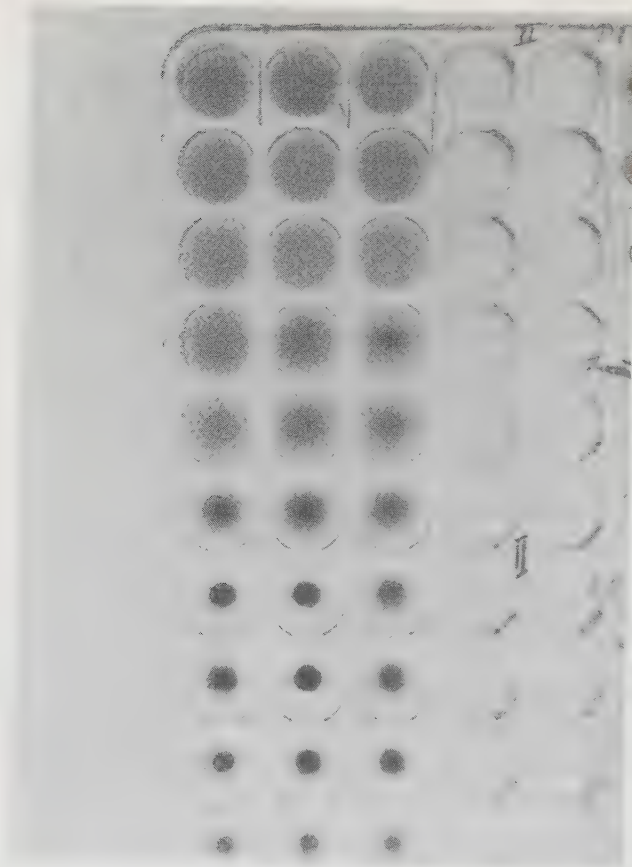


Abb. 6: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Originalplatten)

	1:2 ¹⁰						
1:0	∅	∅	∅		+		
1:2	∅	∅	∅		(+)		
1:2 ²	(+)	+	+		(+)		
1:2 ³	(+)	+	(+)				
1:2 ⁴	(+)	+	+				
1:2 ⁵	+	+	+				
1:2 ⁶	+	+	+				
1:2 ⁷	+	+	+				
1:2 ⁸	+	+	+				
1:2 ⁹	+	+	+				

Tab. 5: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Schematische Darstellung)

↓
- zunehmender Agglutinationstiter

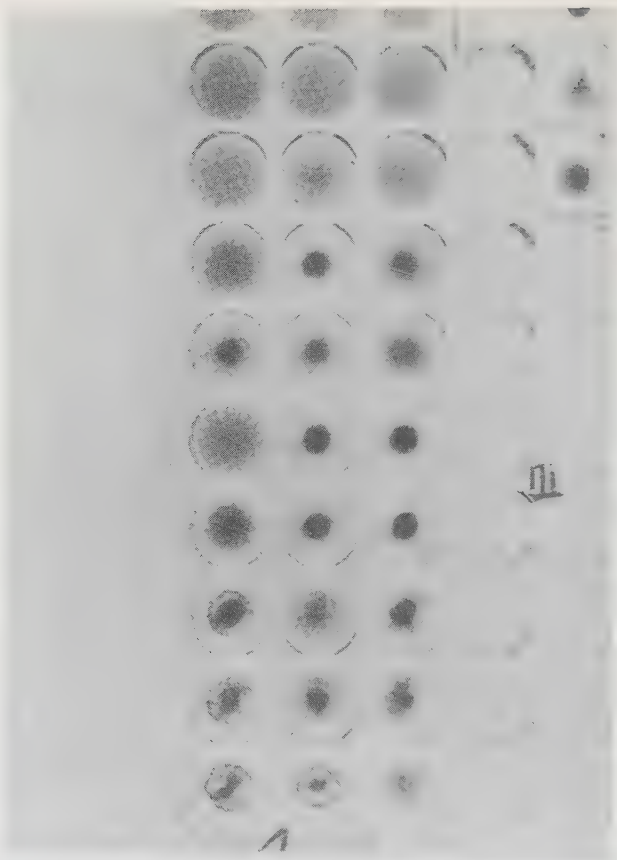


Abb. 7: Ergebnisse der passiven HAmagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Originalplatten)

	1:2 ¹⁰							
1:0	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
1:2	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
1:2 ²	∅	∅	∅	∅	(+)	∅	∅	∅
1:2 ³	∅	∅	∅		+	+	(+)	
1:2 ⁴	∅	∅	(+)		+	+	+	
1:2 ⁵	∅	+	(+)		+	+	+	
1:2 ⁶	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁷	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁸	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁹	+	+	+		+	+	(+)	

Tab. 6: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Schematische Darstellung)

↓
- zunehmender Agglutinationstiter

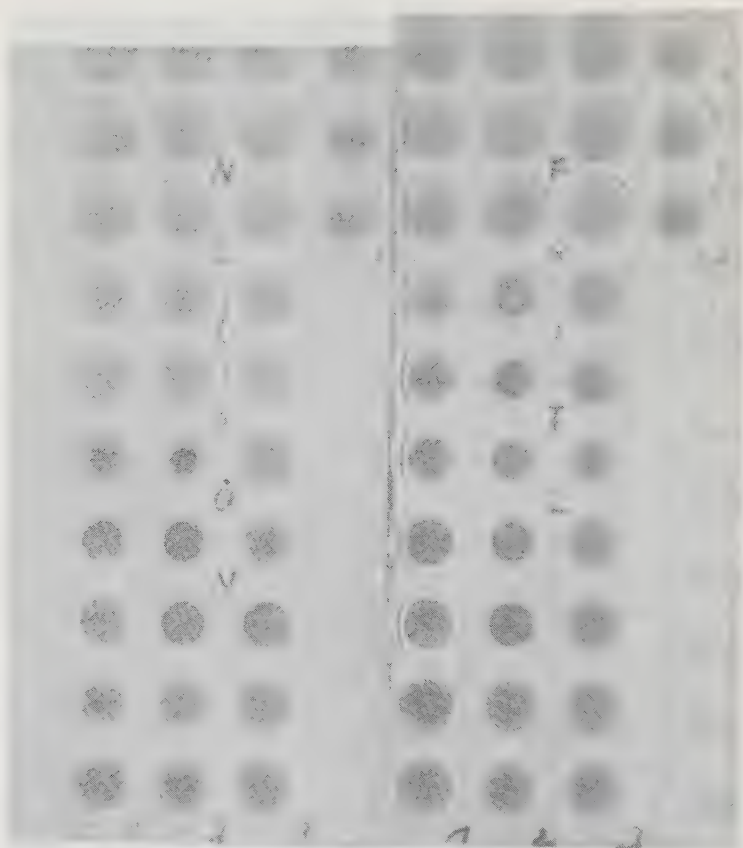


Abb. 8: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Originalplatten)

	1:2 ¹⁰						
1:0	∅	∅	(+)	∅	∅	∅	∅
1:2	∅	∅	(+)	∅	∅	∅	∅
1:2 ²	(+)	∅	(+)	∅	∅	∅	(+)
1:2 ³	+	+	+		∅	∅	+
1:2 ⁴	+	+	+		∅	∅	+
1:2 ⁵	+	+	+		∅	∅	+
1:2 ⁶	+	+	+		∅	∅	+
1:2 ⁷	+	+	+		∅	∅	+
1:2 ⁸	+	(+)	(+)		∅	∅	+
1:2 ⁹	+	∅	∅		∅	∅	+

Tab. 7: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Schematische Darstellung)

↓
- zunehmender Agglutinationstiter

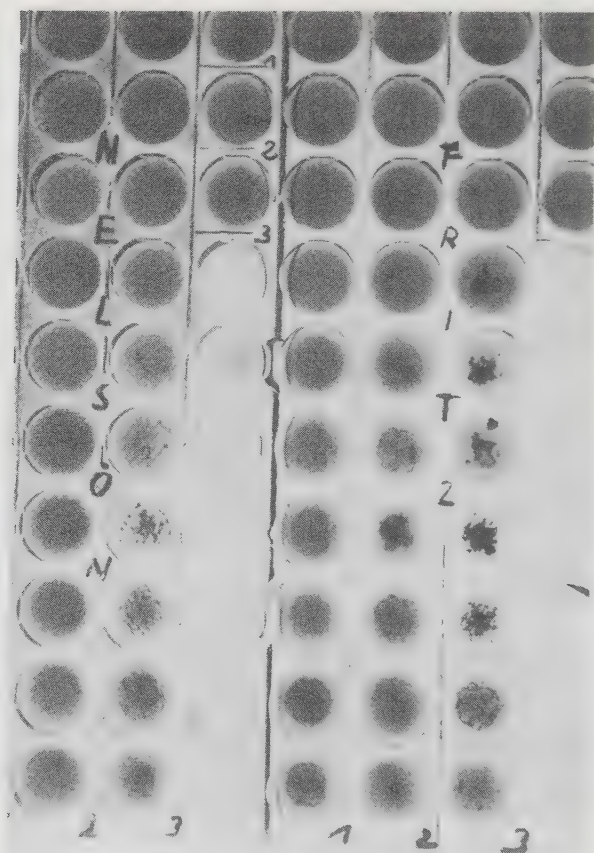


Abb. 9: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnen-serum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Originalplatten)

	1:2 ¹⁰							
1:0	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
1:2	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
1:2 ²	(+)	(+)	∅	+	∅	∅	∅	+
1:2 ³	(+)	(+)	(+)		∅	+	∅	
1:2 ⁴	+	(+)	(+)		∅	+	(+)	
1:2 ⁵	+	(+)	(+)		+	+	+	
1:2 ⁶	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁷	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁸	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁹	+	+	+		+	+	+	

Tab. 8: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinenserum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum vom Kaninchen. (Schematische Darstellung)

↓ - zunehmender Agglutinationstiter

	1:2 ¹⁰							
1:0	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
1:2	∅	∅	∅	∅	∅	∅	(+)	∅
1:2 ²	∅	(+)	(+)	∅	+	+	+	∅
1:2 ³	∅	(+)	+		+	+	+	
1:2 ⁴	∅	+	+		+	+	+	
1:2 ⁵	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁶	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁷	+	+	+		+	+	+	
1:2 ⁸	+	+	+		(+)	(+)	+	
1:2 ⁹	+	+	(+)		(+)	(+)	(+)	

Tab. 9: Ergebnisse der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN unter Verwendung von Patientinnerserum (Antigen) und einem spezifischen Antiserum von Kaninchen. (Schematische Darstellung)

↓
- zunehmender Agglutinationstiter

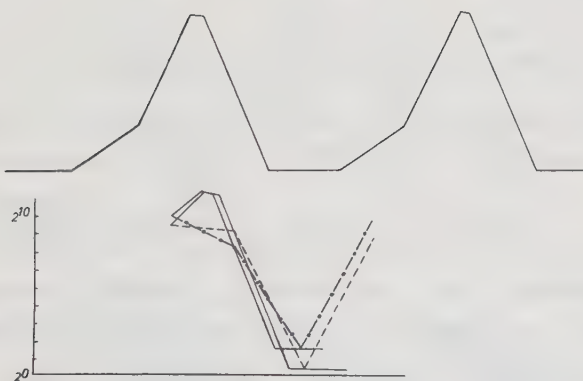
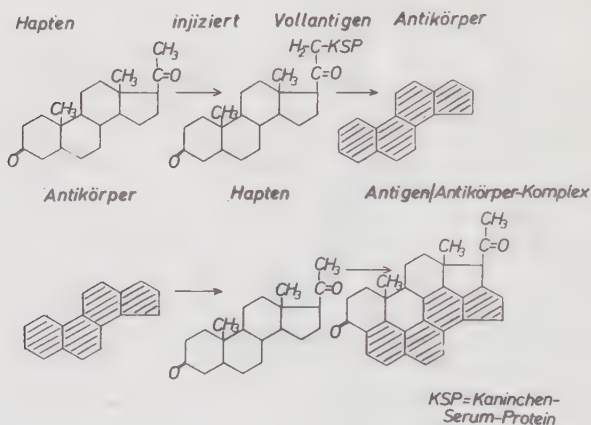


Abb. 12: Zeigt in graphischer Darstellung die während des Beobachtungszeitraumes gefundenen Agglutinationstiter (Mittelwerte) im Vergleich zu einem normalen Hormonspiegel während eines Zyklus.

DISKUSSION

Die vorliegende Arbeit befaßte sich mit der Hypothese, daß Reinhormon, hier Progesteron, intramuskulär oder subkutan injiziert, sich mit körpereigenem Protein (Kanincheneiweiß) zum Vollantigen bindet, in der Art, wie es z. B. vom Krankheitsbild etwa des Kontaktekzems oder anderen Allergien her bekannt ist.



Die ungenügend stichhaltige Differenzierung aus den in der Literatur vermerkten Ergebnissen mit Bovin-Serum-Antigen haben ihre Ursache u. E. darin, daß das Hauptantigen Bovin-Serum war, und daß der Antikörper also in erster Linie gegen dieses gerichtet war. In vorliegender Versuchsanordnung ist das dominierende Antigen das Progesteron. Der Eiweiß-

körper des Kaninchens, welcher zur Bildung eines Vollantigens nötig ist, wird auch im Komplex noch als körpereigen anerkannt. Deshalb richten sich die Valenzen der gebildeten Antikörper vorwiegend gegen Progesteron.

Die Ergebnisse haben gezeigt, daß sich gegen Human-Progesteron im Kaninchen Antikörper bilden. Diese Erkenntnis beruht auf den Ergebnissen der passiven Hämagglutinationsreaktion nach BOYDEN. Die Tatsache, daß nicht gleichzeitig mit der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY Praezipitate nachweisbar waren, dürfte auf die nicht vollständige Löslichkeit des Progesteron in dem angewandten Milieu und die ungenügende Diffusion im Agargel zurückzuführen sein.

Möglicherweise aber spricht der Umstand, daß zwar agglutinierende Antikörper, in keinem Falle aber spezifische Praezipitine gegen Progesteron nachweisbar waren, auch dafür, daß unter gegebener Versuchsanordnung Antikörper mit relativ niedermolekularen Proteinen gebildet wurden. Zu den Reaktionen im Versuch nach BOYDEN läßt sich folgendes sagen:

Die Versuche mit Reinhormon Progesteron ergaben in der Reihenfolge der Kontrollen einen stetigen Anstieg des Antikörpertiters. Dabei fiel auf, daß bei den Tieren, die zusätzlich mit FREUNDschem Adjuvans behandelt worden waren, kein höherer Antikörpertiter festgestellt werden konnte. Die Eigenarten der Agglutination, sowohl in Hinsicht auf die Hämolyse als auch auf die Schwankungen bei noch niedriger Verdünnung können vermutlich durch das Auftreten eines oder mehrerer unspezifischer Inhibitoren erklärt werden.

Die Versuche mit dem Anti-Progesteron-Serum vom Kaninchen zur Bestimmung des Prosteronspiegels mehrerer Frauen zeigten deutliche Unterschiede im Agglutinationstiter. Es ist anzunehmen, daß dieses Ergebnis dem wahren Progesteronspiegel im Serum der Versuchspersonen entspricht. Als Begründung dafür können die Ergebnisse in Abb. 12 gelten.

Die vorliegenden Studien berechtigen dazu, eine immunologische Nachweismethode zur Bestimmung des Spiegels verschiedener Hormone für die Praxis zu entwickeln. Selbstverständlich ist es dann erforderlich, Frauen über mehrere Monate hinweg, in kurzen Zeitabständen mit der in dieser Arbeit aufgeführten Methode zu testen und dabei vergleichsweise eine quantitative Hormonbestimmung mit gängigen Labormethoden durchzuführen.

Vorteil einer solchen immunologischen Nachweismethode wäre, ohne zu Hilfenahme anderer Methoden, wie z. B. der Basaltemperaturmessungen, etwa bei Amenorrhöen über die Situation des tatsächlichen Hormonspiegels exakt Auskunft zu erhalten. Diese wäre vor allem auch für den Beginn einer gezielten, zyklusgerechten Substitutionstherapie von nicht unerheblicher Bedeutung.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit war die Frage einer Antikörperbildung gegen Human-Progesteron tierexperimentell zu klären. Tatsächlich gelang es, im Kaninchenversuch entsprechende, spezifische Antikörper zu induzieren. Versuche mit den gewonnenen Antiseren an Frauen ergaben unterschiedlich hohe, d. h. offenbar zyklusabhängige Titer, so daß an die Möglichkeit der Entwicklung eines Verfahrens zum immunologischen Nachweis menschlicher Hormonspiegel gedacht werden kann.

LITERATURVERZEICHNIS

1. BEISER, S.M., F.J.AGATHE, jr., B.F.ERLANGER und
S.LIEBERMANN:

a) Steroid-protein conjugates

II. Immunochemical and endocrinological
investigations.

Bull. N.Y. Acad. Med.

33 655 (1957)

b) Antigenicity of steroid-protein complexes

Science

129 564 (1959)

2. BOYDEN, S.V.:

The adsorption of proteins on erythrocytes
treated with tannic acid and subsequent
hemagglutination by antiprotein sera.

J. exp. Med.

93 107 (1952)

3. ERLANGER, B.F., F.BOREK, S.M.BEISER und S.LIEBERMANN

a) Steroid-protein conjugates

I. Preparation and characterisation

Bull. N.Y. Acad. Med.

33 654 (1957)

b) Steroid-protein conjugates

- I. Preparation and characterisation of
conjugates of BSA with Testosterone and
with Cortisone.

J. Biol. Chem.

228 713 (1957)

c) Steroid-protein conjugates

- II. Preparation and characterisation of
conjugates of BSA with progesterone
desoxycorticosterone and estrone.

J. Biol. Chem.

234 1090 (1959)

4. GOODFRIEND, L. und A.H. SEHON:

a) Antibodies to estrone-protein conjugates

- I. Immunochemical studies

Can. J. Biochem. Physiol.

39 941-960 (1961)

b) Antibodies to estrone-protein conjugates

- II. Endocrinological studies

Can. J. Biochem. Physiol.

39 961-965 (1961)

5. HENNING, N.:

Laboratoriumsdiagnostik

Urban & Schwarzenberg, München-Berlin 1966

6. LIEBERMANN, S., B.F. ERLANGER, S.M.BEISER und
F.J.AGATHE, jr.:

Steroid-protein conjugates:their chemical,
immunochemical and endocrinological properties.
Recent Progr. in Hormone Research
15, 165-200 (1959)

7. NERI, R. und S.TOLKSDORF:

Biological effects of passiv immunization with
steroid antibodies.
Fed. Proc.
21 208 (1962)

8. OUCHTERLONY, O.

a) Antigen- and Antibody-reactions in gels.
Acta Path. Microbiol. Scand.

26 507 (1949)

b) Diffusion in gel method for immunological
analyses

Prog. Allergy (Karger, Basel/New York)

2 1-78 (1958)

9. WIDE, L. und C.A.GEMZELL:

An immunological pregnancy test.

Acta endocr. (kbh.)

35 261-267 (1960)

10. ZIMMERING, P.E., S.M.BEISER und B.F.ERLANGER:

Purification and some properties of anti-testosterone antibodies.

J. Immunol.

95 262-272 (1965)

Herrn Prof. Dr. med. Scheiffarth möchte ich herzlich danken für die Überlassung des Themas, die in Freundlichkeit erteilten Ratschläge sowie für die Übernahme des Referates.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, an dieser Stelle Frau P.D. Dr. med. H. Götts herzlich zu danken für die liebenswürdige Hilfe während dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Ich, Dieter Krause, wurde am 27. Februar 1941 als erstes Kind des Polizeimeisters a.D. Walter Krause und seiner Ehefrau Amalie Krause, geb. Schnabel, in Wassertrüdingen Kreis Dinkelsbühl geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Wassertrüdingen und Roth. Im Herbst 1952 trat ich in die Adam Kraft-Oberrealschule in Schwabach ein, wo ich im Juni 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Nach Ableistung des 18-monatigen Wehrdienstes begann ich im Sommersemester 1963 mein Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen.

Im März 1964 bestand ich die naturwissenschaftliche und im August 1965 die Ärztliche Vorprüfung.

Am 3. Februar 1969 habe ich das Medizinstudium mit dem Medizinischen Staatsexamen abgeschlossen.

